

기체크로마토그래피에 의한 시판 된장중의 소르빈산과 안식향산의 신속정량법 연구

박광자 · 이시경 · 김남대* · 조남지**

전국대학교 농화학과, *몽고식품(주)

**혜전대학 호텔제과제빵과

A Study on Quick Quantitative Analyzing Method of Sorbic and Benzoic Acids in Doenjang by Gas Chromatography

Kwang-Ja Park, Si-Kyung Lee, Nam-Dae Kim* and Nam-Ji Cho**

Department of Agricultural Chemistry, KonKuk University,* Mong-go Food Co.

**Department of Baking Technology, Hyejeon Collage

Abstract

An analytical method applicable to quality control and its optimum conditions were studied for rapid and efficient analysis of sorbic and benzoic acids used as preservatives in the commercial soybean paste. In gas chromatographic analysis of sorbic and benzoic acids, the application of HP-FFAP (acid modified polyethylene) wide bore column improved the separation ability significantly. By setting the oven temperature of GC to 200°C, the total elapsed time for quantitative analysis was also reduced to the level required in using packed column. By extracting sorbic and benzoic acids from soybean paste with an automatic steam distillation device, the elapsed time for analysis was reduced by 80% more compared to using conventional steam distillation method. The recoveries of sorbic and benzoic acids by the automatic steam distillation were 98.1% and 99.9%, respectively. The sorbic acid was found in 3 samples of 14 commercial soybean pastes, of which contents were 466~530 ppm, while 0.3~4.4 ppm of benzoic acid was found in all the samples.

Key words: Doenjang, sorbic acid, benzoic acid, gas chromatography, analysis

서 론

우리나라의 전통발효식품인 된장은 단백질이 40%나 함유된 콩과 부원료인 전분과 소금을 첨가하여 미생물의 선택적인 활성화와 생육을 유도하여 제조한 것으로 사람이 섭취하기에 용이한 각종 영양성분과 독특한 향과 맛을 갖는 가장 보편화된 조미식품 중의 하나이다⁽¹⁾.

대두발효식품은 영양원으로서 뿐만 아니라 생리활성도 갖고 있어서 점차 그 효과에 대한 학술적 규명노력이 증대되고 있다. 특히 고혈압 방지효과, 항돌연변이성, 항암성, 혈전용해능은 대두에서 유래되는 protease inhibitor, phytic acid, isoflavones 등에 의해서 기인되는 것으로 알려져 있다⁽²⁾. 반면에 된장은 저장중에 산소

의 누출에 의해서 산패되기 쉬운 결점을 가지고 있다⁽³⁾.

된장이 일정기간 동안 발효 과정을 거친후 상품화 단계에서 포장용기에 충전되어 일정기간 이상 유통, 판매되어지는 경우 된장에 잔존하는 효모의 발효에 의해서 탄산가스가 발생하여 용기의 팽창과 갈변화 현상이 일어나 된장의 품질에 많은 영향을 주고 있어 첨가제에 의해서 효모의 증식을 억제, 방지할 필요가 있다. 따라서 된장의 보존제로서 소르빈산과 소르빈산칼륨이 현재 우리나라에서 주로 사용되고 있고, 이 보존제들은 혼합의 불균형 등을 고려하여 실제 사용량은 소르빈산칼륨(소르빈산으로서 약 0.8 g)으로서 1 g/된장 1 kg 이하의 첨가가 바람직하다고 보고되고 있다⁽⁴⁾.

식품중의 소르빈산을 정성적으로 확인하는 방법은 종이크로마토그래피법과 얇은막 크로마토그래피법⁽⁵⁾이며, 최근에 주로 이용되는 기체크로마토그래피에 의한 분석방법은 Larsson⁽⁶⁾에 의해서 연구된 방법으로 탄수화물, 지방, 단백질 등이 많이 함유된 식품에 적용

Corresponding author: Si-Kyung Lee, Department of Agricultural Chemistry, KonKuk University, 93-1, Mojdong Kwangjinku, Seoul 143-701, Korea

할 수 있는 방법이다.

일본의 Ochiai 등⁷⁾은 고상추출법(solid phase extraction)을 적용하고, GC/MS를 이용하여 보존료의 다성분 동시분석이 가능한 방법을 연구하기도 하였다. 이외에도 GC에 의한 식품중의 소르빈산과 각종 보존제의 분석연구로는 Ishiwata 등⁸⁾, Nishiyama 등⁹⁾, Choong 등¹⁰⁾의 보고들이 있다.

고속액체 크로마토그래피에 의한 보존료의 분석에 관한 연구보고로는 Matsunaga 등¹¹⁾, Ikai 등¹²⁾ 그리고 Kobayashi 등¹³⁾의 보고가 있으며 1996년도에 Chen 등¹⁴⁾에 의하여 쌓이온 역상 HPLC 방법을 이용하여 식품중의 감미료와 보존료를 동시에 분석 정량할 수 있는 방법이 보고되기도 하였다.

우리나라에서는 송 등¹⁵⁾이 연구한 바에 의하면 포장된장의 변질을 방지하기 위하여 sorbic acid 0.06%이상, DHA (dehydroacetic acid) 0.02%이상, POBB(buthyl p-hydroxybenzoate)가 0.01% 범위로 함유되어 있었다고 하였다. 또한 노¹⁶⁾는 장류와 건과류에서 소르빈산과 안식향산을 기체 크로마토그래피로 분석하였다.

그러나 대부분의 된장보존제 함량 및 품질과 관련한 연구들은 기존의 식품공전에 의거 장시간 수증기로 증류하는 방법을 채택하고 있기 때문에 일반실험실에서 품질관리에 적용하기에는 문제점이 있다. 따라서 본 연구에서는 수증기 증류시간을 단축하기 위하여 자동 수증기 증류장치를 적용하고 최적 증류조건과 아울러 기체 크로마토그래피의 분석 조건을 개선하였으며, 또한 본 연구에서 검토된 분석법에 따라 시판 된장 14개 시료에 대하여 첨가된 보존제의 함량

을 분석하였기에 결과로서 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 및 시약

소르빈산이 0~1 g/kg 함유된 시판 재래식 된장 3구, 개량식 된장 8구 및 일본 된장 3구 총 14구를 경기도 및 서울시내의 백화점 및 슈퍼에서 구입한 것을 냉장고에 보관하면서 시험에 사용하였다. 분석용 시약인 소르빈산과 안식향산 표준품은 Sigma 사(St. Louis, USA), 내부표준물질인 아세트아닐라이드는 화광순약공업주식회사(일본), 주석산, 염산, 황산, 에틸 에테르, 아세톤, 클로로포름, 무수황산 나트륨 및 식염 등은 모두 일제특급을 사용하였다.

표준용액의 조제

소르빈산과 안식향산 1.00 g을 정확하게 달아 100 mL의 용량플라스크에 취하고 아세톤으로 눈금까지 채웠다. 또한 내부표준 물질인 아세트아닐라이드 1.00 g을 정확히 달아 1 L용 용량플라스크에 넣고 아세톤으로 완전하게 용해시켜 1 L로 정용한 것을 냉장고에 보관하면서 검량선용 표준용액과 시료용액 조제시 일정량을 취하여 첨가 사용하였다.

기기

된장중의 보존료를 분석하기 위하여 사용한 기체크로마토그래피 불꽃염이온검출기(GC-FID)는 스테인레스칼럼용으로 HP-5890 series II (Hewlett Packard Co.,

Table 1. Analytical conditions of gas chromatography-flame ionization detector (GC-FID)

Parts	Packed column	Capillary column
Gas chromatograph	HP-5890 series II (USA)	Shimadzu GC-14B (Japan)
Column length	3 mm × 1 m(stainless steel)	① HP-FFAP 0.53 μm × 30 m ② HP-Innowax 0.25 μm 30 m ③ HP-1 0.33 μm 25 m
Column packing materials	10% NPGS+1% H ₃ PO ₄	① Cross-linked polyethylene glycol-TDA ② Cross-linked polyethylene glycol ③ Cross-linked methyl silicone gum
Standing materials	Chromosorb W (60~80 mesh)	-
Detector temp.	230°C	250°C
Column temp.	170°C	200°C
Injection temp.	210°C	230°C
Carrier gas (N ₂)	60 psi	200 Kpa/min
H ₂ gas volume	50 psi	65 Kpa/min
O ₂ gas volume	50 psi	50 Kpa/min
Injection volume	10 μL	2 μL
Split mode	Splitless	100 : 1

Chapel Hill, USA)를 사용하였고, 모세관칼럼용으로는 Shimadzu사가 제조한 모델 Shimadzu GC-14B (일본)를 사용하여 Table 1의 조건에서 분석하였다.

된장중에서의 보존료의 추출

된장중에서의 보존료의 추출 및 정량법은 우리나라 식품공전법을 응용하였다. 특히 수증기 증류장치는 수증기 발생장치, 시료 도입장치를 가운하면서 냉각기가 부착된 알코올 수증기증류장치를 응용하였고, 본 실험에서 사용하고자 하는 자동연속증류장치는 Tecator사 (Sweden)가 제작한 Kjeltec Auto Sampler System 1035 Analyzer를 사용하였다. 즉, 된장 시료 5 g을 정확하게 달아 100 mL 비이커에 취하고 증류수 50 mL를 가하여 잘 섞은 후 500 mL용 비이커에 취하고 여기에 15% 주석산 용액 5 mL, 식염 60 g 및 증류수를 가하여 잘 교반·용해시켜 200 mL로 한 것을 1 L용 환저플라스크 또는 자동수증기증류시험관(300 mL)에 옮겼다. 이를 수증기증류기에 연결하여 증류하고 유액은 매분 약 5.6 mL, 자동수증기증류는 매분 약 29.4 mL의 속도로 하여 500 mL를 취하여 시험용액으로 하였다. 시험용액 일정량(100 mL)을 분액깔때기에 취하고 여기에 10%염산 5 mL를 가하여 에테르 50, 30 및 30 mL 씩으로 3회 추출하였다. 에테르 추출액을 합하여 50 mL의 물로 씻고 에테르층을 분취하였다. 여기에 무수황산나트륨 5 g을 넣고 2분간 방치한 다음 50°C의 항온수조중에서 상압증발농축시켰다. 잔류물에 내부 표준물질인 아세트아닐라이드 표준용액 5 mL를 가해 보존료정량용 시험용액으로 정용하여 냉장고에 보관하면서 1.0 µL를 취하여 기체크로마토그래피 불꽃염이온검출기(GC-FID)에 주입하여 나타난 peak 면적을 표준용액의 검량선과 비교하여 나타내었다.

소르빈산의 추출방법 비교

소르빈산의 추출방법을 비교하기 위하여 된장 시료를 5 g 취하여 증류수만을 첨가, 기존의 주석산 대신 5% 황산용액 5 mL를 첨가, 15% 주석산 5 mL와 식염 60 g을 첨가한 후 각각 200 mL로 정용하여 자동연속증류법으로 추출하였고, 된장 시료 5 g을 증류수 200 mL로 정용한 후 여과한 여액에 에틸에테르 100 mL를 가해 30분씩 2회 교반 추출한 것과 된장 시료 일정량을 일정량의 물로 정용한 후 여과한 여액 20 mL를 Extrelut-20 column (Φ1.5×15 cm, Merck Co., Germany)에 주입하여 15분간 흡착시킨 후 에틸에테르 300 mL를 사용하여 약 45분간 용출시킨 후 10 mL로 감압농축한 것을 기체크로마토그래피로 분석한 결과를 검량

선과 비교한 농도(ppm) 및 기존의 수증기증류법에 대한 추출효율(%)로 나타내었다.

소르빈산의 회수율 측정

보존제의 회수율 측정은 표준물질 첨가 방법에 따라 소르빈산이 함유되지 않은 것이 확인된 된장시료 3종류에 소르빈산과 안식향산을 각각 200 mg씩을 첨가하여 자동연속증류장치를 이용하여 증류, 추출, 농축 및 기체크로마토그래피로 분석 정량한 결과로 나타내었다.

결과 및 고찰

분리관에 따른 된장 보존제의 분리능 비교

된장 중에 함유된 보존제를 기체 크로마토그래피를 이용하여 분석시 분리관에 따른 소르빈산 및 안식향산의 분리능과 내부표준물질로 사용한 아세트아닐라이드의 분리능을 비교하기 위하여 4종류의 분리관을 각각 이용한 경우의 기체크로마토그램은 Fig. 1과 같다. Fig. 1의 A에서와 같이 네오펜틸글리콜숙시네이

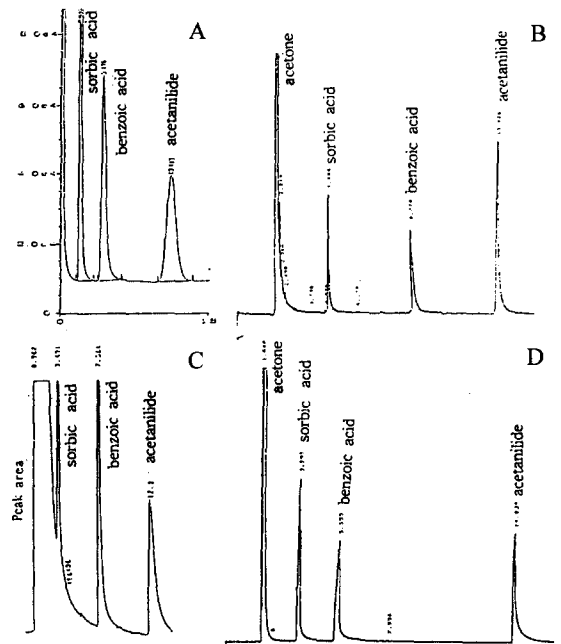


Fig. 1. Gas chromatograms of standard solution of sorbic acid, benzoic acid and acetanilide.

A: Stainless column: 10% Neopentyl glycol succinate polyester-1% phosphoric acid/Chromosorb W (60-80 mesh) B: HP-FFAP capillary column: acid modified polyethylene glycol C: HP-Innowax capillary column: polyethylene glycol D: HP-1 capillary column: diethyl polysiloxane

Table 2. Comparison of response factor using different columns and extracting solvents

compound	HP-FFAP		NPGS		HP-1	
	CH ₃ COCH ₃	CHCl ₃	CH ₃ COCH ₃	CHCl ₃	CH ₃ COCH ₃	CHCl ₃
Sorbic acid	1.459	0.667	1.779	-	0.949	0.957
Benzoic acid	1.746	0.768	1.533	-	0.841	0.836

Response factor=(compound area/compound amount)/(ISTD area/ISTD amount).

트 폴리에스테르(neopentyl glycol succinate polyester, NPGS)가 10% 코오팅된 충전칼럼에서는 소르빈산, 안식향산 및 내부표준물질인 아세트아닐라이드의 머무름 시간은 오븐온도를 170°C 등으로 유지했을 때 3.03분, 5.17분, 13.41분에 각각 분리할 수 있었다. 또한 분리관을 HP-FFAP로 사용하여 오븐온도를 200°C 등으로 유지하였을 때 이들의 크로마토그램은 Fig. 1의 B에서와 같이 소르빈산은 4.68분, 안식향산은 8.77분 그리고 아세트아닐라이드는 13.42분에서 각각 분리할 수 있었다. 이러한 머무름 시간은 충전칼럼보다 HP-FFAP 모세관 칼럼에서 소르빈산은 1.6분, 안식향산은 3분 정도 늦게 나타났으나 내부표준물질인 아세트아닐라이드는 13.42분으로 매우 비슷한 머무름 시간을 갖고 있었다. 그러나 폴리에틸렌 글리콜이 충전된 HP-Innowax 모세관 칼럼을 이용시에는(Fig. 1의 C) 각각 3.491, 7.564 및 12.8분이었다.

한편 비극성 칼럼인 HP-1(diethyl-siloxane)모세관 칼럼에서도 소르빈산과 안식향산 표준물질의 분리가 가능하여 Fig. 1의 D에서와 같이 분리능은 전반적으로 극성 칼럼과 유사하였다. 그러나 내부표준물질인 아세트아닐라이드 peak의 tailing현상이 증가하는 것을 알 수 있었다. 실제 시료인 된장으로부터 수증기 추출된 소르빈산과 안식향산의 기체 크로마토그램상에서 다른 방해물질이 증가하는 현상을 보여 실질 시료에 적용하는 것은 문제가 있는 것으로 생각된다.

이상의 실험에서 HP-FFAP 모세관 칼럼을 이용하여 소르빈산과 안식향산 그리고 아세트 아닐라이드 peak의 바탕선 분리가 가능하였으며 소르빈산과 안식향산의 머무름 시간은 충전칼럼보다 길었으나 표준물질인 아세트아닐라이드의 머무름시간은 유사하여 전체 분석시간은 같았으며, peak의 분리능도 큰 차이를 보이지 않았다. 이러한 결과는 모세관 칼럼에서 문제가 되었던 머무름 시간의 연장이 기체크로마토그래피 오븐온도를 200°C로 조절하면 전체 분석 소요시간은 충전칼럼과 같은 시간내에서 분석이 가능하다는 것을 보여 주고 있다. 따라서 기체 크로마토그래피에 의한 된장 중의 보존제 분석에서는 본 연구에서 검토한 NPGS 충전칼럼이나 HP-FFAP 모세관칼럼으로 분석하는 것이

유용하며, 또한 최근 모세관 칼럼의 우수한 분리능과 편리성으로 인하여 이의 사용이 보편화되고 있어 보존제의 분석에도 충전칼럼을 사용하는 경우보다 효율적인 것으로 생각된다. 장류중에 함유된 보존제의 분석에서 일반적으로 극성을 띠는 충전칼럼에는 디에틸렌글리콜숙시네이트 폴리에스테르(diethylene glycol succinate polyester, DEGS) 2~5% 그리고 인산을 1% 입힌 것이거나 NPGS 10%에 인산을 1% 입힌 것을 고정상으로 이용하고, 칼럼은 1~2 미터 길이의 스테인레스관을 주로 사용하는 것으로 보고되고 있다⁽¹⁷⁾. 또한 모세관 칼럼 역시 극성을 띠는 OV-351 또는 CP wax 58CB 그리고 Supelco wax 10, SPB-225 등도 이용되는 것으로 알려져 있다⁽¹⁸⁾. 한편 Table 2는 각 칼럼에서의 내부표준물질과 소르빈산 및 안식향산의 농도와 추출용매에 따른 peak 면적값을 얻어 response factor(감응계수)를 수록한 것이다. 이 표에서 알 수 있듯이 아세톤을 용매로 사용할 때 HP-FFAP칼럼에서는 소르빈산과 안식향산이 1.459와 1.746으로 나타났고, 클로로포름 용매에서는 0.667과 0.768로 각각 나타났다. 또한 NPGS 충전칼럼에서는 추출용매가 아세톤인 경우에 1.779와 1.533으로 나타났다. 이와같이 극성칼럼인 두 개의 칼럼의 경우 서로 감응계수가 비슷하였으나 비극성 칼럼인 HP-1은 극성칼럼보다 낮은 0.949와 0.841의 감응계수를 보여주었다. 이러한 결과는 각 칼럼의 충전제에 의한 것으로 보여지며 특히 각 peak의 분리능에 기인하는 것으로 생각된다.

이상의 실험에서 검토된 HP-FFAP 모세관 칼럼을 이용하여 된장시료에 함유된 각 보존제의 크로마토그램은 Fig. 2와 같다. 소르빈산은 4.68분 안식향산은 8.77분 그리고 내부표준물질인 아세트아닐라이드는 13.42분으로 각각 분리되어 소르빈산이 21.83 ppm이었으며 안식향산은 미량 함유된 것으로 나타났다.

증류방법의 검토

된장 시료에 함유된 소르빈산의 분석시 증류방법을 개선시키는 하나의 시도로써 된장 시료를 일정량 취하여 우리나라 식품공전 중의 수증기 증류법과 본 연구에서 사용된 자동연속증류법을 비교하기 위하여 증

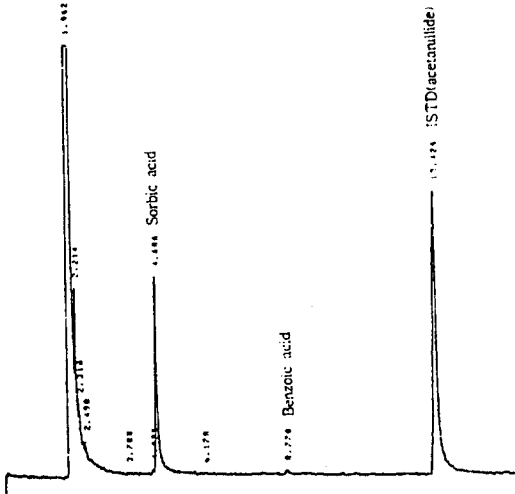


Fig. 2 Gas chromatogram of preservatives in Doenjang using a HP-FFAP capillary column.

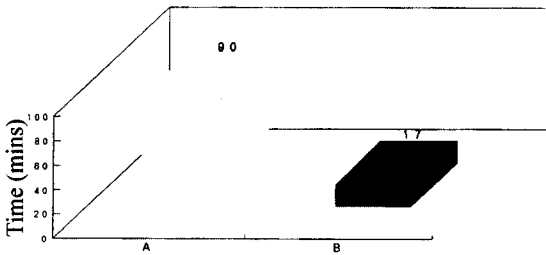


Fig. 3 Comparison of distillation time for sorbic acid analysis in Doenjang using steam distillation method (A) and auto steam distillation method (B).

류액이 500 mL에 이르는 시간을 검토한 결과를 Fig. 3에 나타내었다.

그림에서와 같이 우리나라 식품공전에 의한 수증기 증류법을 이용하였을 경우 500 mL의 증류액을 취하는데 평균 90분이 소요되었으며, 자동증류법은 평균 17분이 소요되어 수증기 증류법 보다 4.5배가 덜 소요되었고 기존의 방법에 최소시간인 50분과 비교 할 때에도 약 3배가 덜 소요되는 것으로 나타났다. 일본의

식품위생 검사지침 I의 방법⁽¹⁹⁾에서는 소르빈산의 열분해를 피하기 위하여 수증기 증류방법이 채택되어 있지만 소요시간을 단축하기 위하여 증류액의 양을 적게 취하는 방법과 위생 시험법주해⁽⁶⁾ 및 기준된장 분석법⁽²⁰⁾에 따라서 직화증류를 권하고 있다. 그러나 직화증류법은 증류의 회수율은 높으나 탄화에 의한 말론알데히드의 발생을 방해하는 단점이 있기 때문에 이를 개선하기 위하여 소르빈산 분석시 회수율을 증가시키려고 황산마그네슘 50 g을 첨가하여도 2회 이상의 증류가 필요하였다는 Yasuhira 등⁽²¹⁾의 연구결과보다 본 연구에서 수행된 자동연속증류법이 더 좋은 결과를 보였다. 이상의 실험에서 자동증류장치를 이용한 자동증류법을 사용할 경우 식품공전에서 사용되는 기존의 수증기 증류법과 비교시 증류시간이 약 73분이 단축되어 81.1%를 단축시키는 결과를 보였다.

추출방법의 검토

된장중의 소르빈산의 추출방법의 차이에 의한 추출수율을 비교하기 위하여 된장 시료를 일정량 취하여 기체 크로마토그래피로 소르빈산을 분석, 정량한 농도(ppm)와 추출수율을 나타낸 결과는 Table 3과 같다. 기존의 수증기 증류법에 의한 된장중에 함유된 소르빈산 함량은 449.68 ppm이었으며, 각 추출조건 즉, 물, 5% 황산용액 및 15%주석산과 식염 60 g을 첨가후 추출하는 방법, 에테르 추출 및 고상 추출법(Extrelut-20컬럼)에 의한 소르빈산의 함량은 각각 263.77, 328.83, 466.70, 651.17 및 525.09 ppm으로서 수증기 증류법에 대한 추출수율은 각각 58.65, 73.13, 103.77, 144.81 및 116.36%로 에틸에테르 추출방법에 의한 추출수율이 가장 좋았다. 이러한 결과는 기존의 수증기증류에 의한 소르빈산의 추출시 휘발에 의한 손실을 방지할 수 있기 때문이다. 즉 에테르로 직접추출함으로써 소르빈산의 손실을 방지한 것과 추출시간의 단축에 기인한다고 생각된다. 이상의 결과는 Yasuhira 등⁽²¹⁾의 연구에서 소르빈산의 추출수율이 97.90~98.20%로 높게 나타났다고하여 본 실험의 결과와 유사하였다. 그러

Table 3. Comparison of the sorbate's extraction efficiency by Auto distillation device with solvents and steam distillation

Extracting conditions	Water	5% Sulfuric acid	15% Tartaric acid and NaCl 60 g	Ether	Extrelut-20 column	Steam distillation
Analysis results (ppm)	263.77	328.83	466.70	651.17	525.09	449.68
Extraction efficiency (%)	58.65	73.13	103.77	144.81	116.77	100.00

Table 4. Comparison of recoveries of sorbic acid and benzoic acid in Doenjang by the automatic steam distillation

Recovery ratio	Preservatives	
	Sorbic acid	Benzoic acid
Mean (mg)	196.12±7.35	199.78±4.72
Mean of recovery (%)	98.06	99.89

나 이상의 함량측정 결과는 표지에 기록된 이론적 첨가량과는 다소 차이가 있었는데 이는 시판된장을 그대로 사용함으로써 제조공정시 정확한 첨가량, 유통 경과기간, Shibazaki⁽²²⁾가 보고한 *Zygosaccharomyces rouxii*에 의한 소르빈산의 감소 등이 작용한 것으로 생각된다.

한편 소르빈산이 함유되지 않은 것이 확인된 3종류의 된장시료 1 kg에 소르빈산과 안식향산을 표준물질 첨가법에 따라 각각 200 mg씩을 첨가하고 자동 연속 증류장치를 이용하여 증류한 후 기체 크로마토그래피로 분석 정량한 결과는 Table 4와 같다.

표에서와 같이 소르빈산은 평균 98.06%의 회수율을 그리고 안식향산의 회수율은 평균 99.89%로 안식향산의 회수율이 다소 높았다. 이것은 HP-FFAP 칼럼에 의한 표준용액의 검량선 비교 결과(자료생략)와 HP-FFAP 칼럼에 대한 분리능이 좋은 것에 기인하는 것으로 생각된다.

된장중의 보존료 분석결과

일반시장에서 구입한 14개 시판 된장중의 보존료를

자동증류법으로 추출하고 HP-FFAP 모세관 칼럼을 사용하여 기체크로마토그래피로 검출, 정량한 결과는 Table 5와 같다.

시판 된장 14 검체의 수분함량은 48.00~54.60%범위에 있었으며, 구분별 평균 수분함량은 재래된장이 54.5%, 개량식 된장이 50.72%, 일본된장이 50.9%로서 재래식된장의 수분함량이 가장높았다. 이는 정⁽²³⁾이 보고한 전통된장의 평균 수분함량 58±4.0%, 시판 된장의 평균 수분함량이 51.6±2.3%라는 것과 일치하였으며, 소르빈산의 함량은 3개의 시료(전체의 21.43%에 해당)에서 466.7~530.0 ppm의 범위로 검출되었으나 11개의 시료에서는 불검출되어 식품공전규격에 모두 적합하였다.

한편 안식향산은 14개 시료 전체에서 모두 검출되어 상당히 적은 양(0.33~4.44 ppm)이 검출되었다. 시판 된장중에서 안식향산이 검출되는 요인은 크게 두 가지로 생각되어진다. 하나는 된장제조를 위한 원료인 대두, 밀쌀, 소맥분, 중국 및 염수에 자연적으로 존재하고 있는 안식향산이 최종 된장제품에 그대로 이행된 경우이다. Hosogai 등⁽²⁴⁾의 보고에 의하면 두류로 제조된 콩된장중의 안식향산 함유량은 0.35~11.6 ppm범위이고, 노⁽²⁶⁾는 식품중의 보존료에 관한 연구에서 소맥 제품인 식빵, 건과에서 안식향산이 혼적 정도로 모두 검출되었다고 하였으며, Fujimori 등⁽²⁸⁾은 사이다식초 1검체중에서 안식향산이 2.8 ppm이 검출되었다고 보고하였다. 또 다른 요인으로는 된장 발효과정중의 미생물 증식에 의한 대사산물로서 안식향산이 생산되는 경우이다. 대두즙 배지에 *Bacillus subtilis*와 같은 세균

Table 5. Concentrations of sorbic acid and benzoic acid in the commercial Doenjang samples by gas chromatographic analysis using a HP-FFAP capillary column

Sorts	Samples	Moisture (%)	Preservatives (ppm)	
			Sorbic acid	Benzoic acid
Traditional Doenjang	A	54.60	ND	2.25
	B	54.40	ND	1.45
	C	54.50	ND	2.10
Improvement Doenjang	D	48.00	530.02	4.44
	E	52.02	ND	0.33
	F	50.25	ND	1.22
	G	50.76	466.70	2.50
	H	53.44	480.88	2.23
	I	50.54	ND	0.55
	J	50.32	ND	1.23
Japanese Doenjang	K	50.42	ND	1.25
	L	49.60	ND	2.45
	M	54.00	ND	1.30
	N	49.10	ND	2.20

ND: None detected.

을 배양시킨 후의 향기성분 중에서 벤즈알데히드가 약 12 ppm 생성되었고⁽²⁵⁾, 또한 Sugawara⁽²⁶⁾가 일본된장의 향기성분을 분석한 바에 의하면 벤즈알데히드가 0.11~0.35 ppm 존재한다고 하였으며, 또한 Nakahama⁽²⁷⁾는 간장중에서 산막성 효모인 *S. rouxii* var. *halomembranis*가 호기적으로 되기 쉬운 발효물(mormi)표면 등에서 증식하면 페닐알라닌을 분해시켜 이취를 나타내는 벤즈알데히드를 생성한다고 하였다. 따라서 안식향산 제조법 중의 하나인 벤즈알데히드의 산화에 의한 제법을 고려한다면 된장 발효중에서의 생성된 벤즈알데히드가 수증기증류에 의해 산화되어 안식향산이 생성되어지는 것으로 생각되어진다. 그러나 향후 안식향산이 어디서부터 유래되어 된장에 존재하는지에 관한 연구는 계속되어야 할 것으로 생각된다.

이상의 결과들로부터 수증기증류법에 의한 스테인레스칼럼 대신에 자동수증기증류법으로 신속하게 증류하여 HP-FFAP 칼럼을 이용하여 시판 된장중에 함유된 보존제를 분석할 수 있었다.

요 약

시판 된장중에 보존제로 사용되는 소르빈산과 안식향산 측정방법을 품질관리에 응용할 수 있도록 신속하고 실용적인 분석방법을 검토한 결과는 다음과 같다.

소르빈산과 안식향산을 기체크로마토그래피로 분석할 때, HP-FFAP(acid modified polyethylene) wide bore 모세관 칼럼을 사용하여 분리능을 크게 개선할 수 있었으며, 전체 분리에 소요되는 분석시간은 기체크로마토그래피의 오븐 온도를 200°C로 조절하면 충전칼럼에서와 비슷한 시간대에서 정량분석이 가능하였다. 된장중에 함유된 소르빈산과 안식향산을 자동수증기 증류장치를 이용하여 추출하면 분석에 소요되는 시간을 기존의 수증기 증류에 소요되는 시간보다 약 80% 정도 단축시킬 수 있었다. 표준물질 첨가법에 따라 회수율을 측정한 결과 자동수증기 추출장치에서 소르빈산은 98.1%, 안식향산은 99.9%이었다. 시판 된장중의 소르빈산 함량을 측정된 결과 14개의 검체중에서 3개의 시료에서 466~530 ppm 범위의 농도를 갖고 있었으며, 안식향산은 모든 시료에서 0.3~4.4 ppm 정도로 검출되었다.

문 헌

1. Kim, N.D., Choi, S.G. and Joo, H.K.: Changes of chemical composition and activity of soybean by processing method (in Korean), *Kor. Agr. Chem. Soc.*, **35**, 232-

236 (1992)

2. Chung, K.S., Yoon, K.D., Hong, S.S. and Kwan, D.J.: Antimutagenic and anticarcinogenic effect of Korean fermented soybean products (in Korean), The 1st International symposium proceedings on functional and physiological activities of Korean traditional soybean fermented foods, KonKuk Univ., 3-24 (1996)

3. Simic, M.G. and Karel, M.: Autoxidation in food and biological systems, Plenum Press, N.Y., 45-70 (1979)

4. Mochizuki, T.: New labeling of food additives and their effective utilization for Miso, *J. Brew. Soc. Jap.*, **86**, 759-764 (1991)

5. The Pharmaceutical Society of Japan: Standard method of analysis for hygienic chemists, Keum Won, Ltd, Tokyo, pp. 305-308 (1980)

6. Larsson, B.: Gas-liquid chromatographic determination of benzoic acid and sorbic acid in foods: NMKL Collaborative study, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **66**, 775-780 (1983)

7. Ochiai, N., Yamagami, T. and Daidhima, S.: Simultaneous analysis of preservatives in food by gas chromatography/mass spectrometry with automated sample preparation instrument, *Bunseki Kagaku*, **45**, 545-550 (1996)

8. Ishiwata, H., Nishijima, M., Fukasawa, Y., Ito, Y. and Yamada, T.: Evaluation of sorbic acid contents in foods and the daily intake deduced from the result of office inspection in Japan in F.Y 1994, *J. Food Hygiene, Japan*, **37**, 378-384 (1996)

9. Nishiyama, O., Kurita, R., Kurozuka, M., Matsumura, M., Oukuni, N., Wano, K., Morioka, S. and Kaneda, Y.: Analysis of preservatives in food by using steam distillation with ammonium sulfate saturated solution, *J. of the Food Hygiene, Japan*, **36**, 495-500 (1995)

10. Choong, Y.M., Ku, K.L., Wang, M.L. and Lee, M. H.: Simple and rapid method for the determination of sorbic acid and benzoic acid in foods, *J. Chinese Agr. Chem. Soc.*, **33**, 247-261 (1995)

11. Matsunaga, A., Yamamoto, A. and Makino, M.: Simultaneous determination of saccharin, sorbic acid, benzoic acid and five esters of p-hydroxybenzoic acid in liquid foods by isocratic high-performance liquid chromatography, *J. Hygienic Chem.*, **31**, 269-273 (1985)

12. Ikai, Y., Oka, H., Kawamura, N. and Yamada, M.: Simultaneous determination of nine food additives using high-performance liquid chromatography, *J. Chromato.*, **457**, 333-343 (1988)

13. Kobayashi, K., Tsuji, S., Tonogai, Y. and Ito, Y.: A rapid and simultaneous determination of saccharin, benzoic acid, sorbic acid and six esters of p-hydroxybenzoic acid in liquid foods by HPLC, *Nippon Shokuhin kogyo Gakkaishi*, **33**, 514-518 (1986)

14. Chen, B.H. and Fu, S.C.: Simultaneous determination of preservatives, sweeteners and antioxidants in foods by paired-ion liquid chromatography, *Chromatographia*, **41**, 43-50 (1995)

15. Song, S.H., Park, K.C., Kim, H.M. and Sung, J.H.: The study on preservation of Doenjang (in Korean), *Tech. Res. Report of Kor. Army Technical Institute 7*, 24-26 (1968)

16. Ro, H.S.: Simultaneous gas chromatographic determination

- of sorbic acid, dehydroacetic acid, benzoic acid, butyl *p*-hydroxybenzoate, *Kor. J. Food. Sci. Technol.*, **4**, 24-28 (1972)
17. Korea Food Research Institute: Technical education on component analysis of soybean products, analysis of preservatives and antioxidants, 125-138 (1997)
 18. Fujimori, M., Kajino, K., Kawamura, Y., Ito, Y. and Horitsu, H.: Simultaneous assay of eight food preservatives in imported fruit vinegars by solid-phase extraction Gas-liquid chromatography (in Japanese), *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, **68**, 967-972 (1994)
 19. Jap. Food Hygiene Asso.: Food hygiene standardization I. p. 370 (1973)
 20. Zenkok Miso Kizutsukai: Standard Miso Analysis Method, p. 98 (1968)
 21. Yasuhira, H. and Mochizuki, T.: A study of quantitative analyzing method of sorbic acid in the Doenjang by gas chromatography, *Science and Technology of Miso*, **305**, 30-33 (1979)
 22. Shibazaki, H.: The decrease of sorbic acid by yeast (in Japanese), Kokawaken food laboratory research report, **86**, 54-59 (1993)
 23. Jung, S.W.: Standardization of soybean products (in Korean), *Bulletin of Food Technol.*, **8**, 79-90 (1995)
 24. Hosogai, Y., Naoiya, S. and Okada, T.: Food Hygiene-Chemicals Manual, Central Law published. Ltd, Tokyo. Japan, pp. 19-30 (1984)
 25. Kim, J.K.: Industrialization of soybean souce and Doenjang (in Korean), *Bulletin of Food Technol.*, **8**, 43-53 (1995)
 26. Sugawara, E.: Search for Aroma Components of Miso, *J. Brew. Soc. Jap.* **86**, 411-416 (1991)
 27. Nakahama, T.: Film and non film yeast, the report on physiological and growth characteristics of brewing yeast (in Japanese), *J. Brew. Soc. Jap.*, **70**(9), 637-641 (1975)
-
- (1998년 9월 5일 접수)